

УДК 543.4 + 543.432.620 + 547.633.6

# ВЛИЯНИЕ РАСТВОРИТЕЛЯ НА ПРОТОНИРОВАНИЕ РОДАМИНА Б. ИНДИКАТОРНЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАКРОКОЛИЧЕСТВ ЭТАНОЛА В ЕГО СМЕСЯХ С ВОДОЙ

© 1999 Н.О.Мчедлов-Петросян, А.И.Гризодуб\*, В.И.Кухтик

Характер влияния добавок органических растворителей на протонирование нейтральной формы родамина Б в водном растворе подтверждает ее цвиттер-ионное строение; значение  $pK_{a0}$ , отвечающее равновесию  $HR^+ \rightleftharpoons R + H^+$ , изменяется в соответствии с типом заряда  $+/\pm$ . Лишь в средах со значительным содержанием апротонных растворителей преобладание бесцветного лактонного таутомера нейтральной формы приводит к типу заряда  $+/0$ .

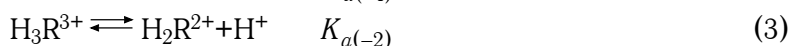
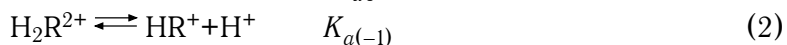
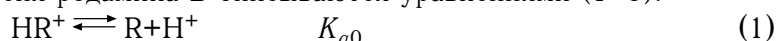
Протонирование катиона красителя, протекающее в водных растворах при  $pH < 1$ , резко ослабляется при добавлении органических растворителей различной природы. Такое изменение значения  $pK_{a(-1)}$  находится в соответствии с типом заряда  $2+/+$  ( $H_2R^{2+} \rightleftharpoons HR^+ + H^+$ ). Обнаруженный эффект позволяет определять макроколичества этанола в его смесях с водой, например, в лекарственных настойках. В 1 моль/л растворе  $H_2SO_4$  линейность зависимости светопоглощения при 560 нм от содержания этанола наблюдается в интервале 0–30%  $C_2H_5OH$ .

Имеется множество методов определения малых количеств воды в органических растворителях, в том числе методов, основанных на использовании цветных индикаторов — как кислотно-основных, так и сольватохромных. Во всех случаях используется чувствительность изменений системы (например, положения равновесия) к малым добавкам воды [1]. В то же время, существует целый ряд практически важных систем, в которых содержания воды и органического растворителя соизмеримы. В этом случае речь скорее следует вести о прямом определении доли органического компонента. Так, имеются методы определения макроколичеств этилового спирта в его смесях с водой [2].

Поэтому представляет интерес исследование водных индикаторных систем, чувствительных к добавкам органических растворителей. В качестве одной из таких систем нами изучены водные растворы красителя родамина Б.

## Кислотно-основные равновесия родамина Б

Кислотно-основные равновесия родамина Б описываются уравнениями (1–3):



Спектры поглощения ионных форм родамина Б даны на рис.1. Нейтральная форма R представлена в водном растворе цвиттер-ионной структурой  $R^\pm$ , спектр поглощения которой мало отличается от спектра монокатиона  $HR^+$ , в то время как в апротонных (не содержащих гидроксильной группы) растворителях преобладает бесцветный лактон  $R^o$  [3–7]:

\* Государственный научный центр лекарственных средств, г.Харьков

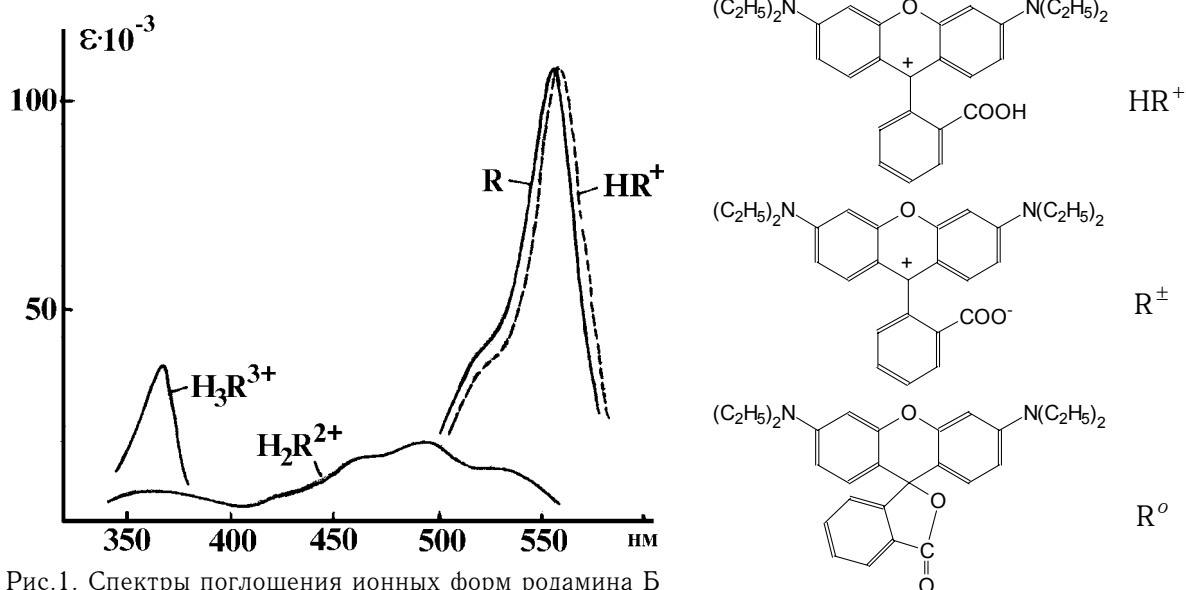
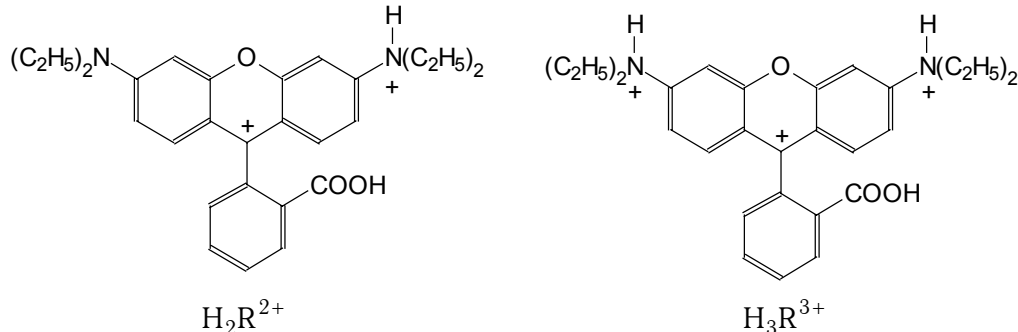


Рис.1. Спектры поглощения ионных форм родамина Б

Экстраполяцией к чистой воде зависимости логарифма константы равновесия ( $R^{\pm} \rightleftharpoons R^o$ ) от величины обратной диэлектрической проницаемости ( $1/\epsilon$ ) водно-ацетоновых смесей показано, что доля нейтральной формы красителя, существующей в водном растворе в виде лактона, составляет несколько менее 1% [3-7].

В воде термодинамическое значение  $pK_{a0}$  равно  $3.22 \pm 0.02$  [3-5]. Протонирование однозарядного катиона  $HR^+$  отчетливо проявляется в электронных спектрах при  $pH < 1$ . Дальнейшее протонирование с образованием трехзарядного катиона  $H_3R^{3+}$



протекает лишь в концентрированной серной кислоте; значение  $pK_{a(-2)}$  равно  $-7.4$  в шкале  $H_0$  и  $-9.4$  в шкале  $H^{///}$  [8].

Термодинамическое значение  $pK_{a(-1)}$  родамина Б в водном растворе составляет  $0.2 \pm 0.1$  [9]. Оно получено экстраполяцией зависимостей  $pK_{a(-1)}$  от ионной силы, а также с использованием различных функций кислотности и мало зависит от типа применяемой минерально-кислой системы ( $H_2SO_4$ ,  $HClO_4$ ,  $HCl$ ,  $HCl + KCl$ ). Особенности кислот учтены путем оценки значений констант нестойкости ионных пар  $H_2R^{2+} A^-$ , которые составляют от  $\approx 0.8$  до  $\approx 0.06$  [9].

Изменения значений  $pK_a$  ("эффекты среды",  $\Delta pK_a$ ), регистрируемые при переходе от воды к водно-органическим и неводным растворам, можно выразить через коэффициенты активности переноса ( $\gamma$ ) участников реакции:

$$\Delta pK_a = pK_a - pK_a^w = \log \gamma_{H^+} + \log \frac{\gamma_B}{\gamma_{HB}} \quad (4)$$

( $pK_a^w$  – значение  $pK_a$  кислоты HB в воде). Предполагая, что значения  $\log \gamma$  могут быть выражены в виде суммы электростатического и “сольватационного” вкладов, и упрощенно считая ионы сферическими, можно получить уравнение [10,11], которое, по-видимому, справедливо было бы называть уравнением Бренстеда–Измайлова. При использовании единиц СИ оно выглядит следующим образом:

$$\Delta pK_a = \frac{F^2}{4.6 \cdot 4\pi \cdot 8.854 \cdot 10^{-12} RT N_A} \times \left[ \frac{1}{r_{H^+}} + \frac{z_B^2}{r_B} - \frac{z_{HB}^2}{r_{HB}} \right] \times \left[ \frac{1}{\varepsilon} - \frac{1}{\varepsilon_w} \right] + \frac{\Delta G_{solv}^{tr}(H^+) + \Delta G_{solv}^{tr}(B) - \Delta G_{solv}^{tr}(HB)}{2.3RT}, \quad (5)$$

где  $F$  – число Фарадея,  $R$  – газовая постоянная,  $N_A$  – число Авогадро,  $T$  – абсолютная температура,  $z$  и  $r$  – заряд и радиус соответствующей частицы,  $\varepsilon$  и  $\varepsilon_w$  – относительные диэлектрические проницаемости данного растворителя и воды, соответственно,  $\Delta G_{solv}^{tr}(i)$  – “сольватационная” (или “химическая”) составляющая энергии Гиббса переноса данной частицы из воды в данный растворитель. В предположении примерного равенства радиусов частиц первая квадратная скобка превращается в величину  $n_z / r$ , где

$$n_z = 1 + z_B^2 - z_{HB}^2.$$

Согласно представлениям Кольтгофа и Бейтса [10], квазиклассическое описание кислотно–основных пар, основанное на концепции типа заряда (зарядного типа) и не учитывающее величин  $\Delta G_{solv}^{tr}(B)$  и  $\Delta G_{solv}^{tr}(HB)$ , в большинстве случаев позволяет правильно предсказать знак  $\Delta pK_a$ . Примечательно, что подобный подход применим и к кислотно–основным индикаторам – красителям, ионы и молекулы которых явно несферичны.

В частности,  $pK_a$  катионных кислот (тип заряда  $+ / 0$ ,  $n_z = 0$ ) должны при добавлении к воде органических растворителей с более низкими значениями  $\varepsilon$  изменяться гораздо меньше, чем нейтральных кислот (тип заряда  $0 / -$ ,  $n_z = 2$ ). Это обычно и наблюдается на практике [10], причем для катионных кислот чаще всего происходит даже некоторое понижение  $pK_a$ , вероятно, за счет сольватационных эффектов [12]. По мере приближения к чистому неводному растворителю значения  $pK_a$  обычно вновь возрастают из-за так называемой пересольватации (замены молекул воды на молекулы органического растворителя в первичной сольватной оболочке) протона.

Однако значение  $pK_{a0}$  родамина Б при добавлении к воде первых же порций метанола, этанола, ацетона и других органических растворителей увеличивается [3-5,7]. Монотонное ослабление кислотной силы  $HR^+$  продолжается вплоть до 100% неводного компонента [3-5,7]. Термодинамические значения  $pK_{a0}$  в метиловом и этиловом спиртах найдены равными 7.42 и 8.7, соответственно [3,13]. Эти значения согласуются с литературными данными [14] (7.6 и 8.7, соответственно, без указания ионной силы). Причина заключается в том, что кислотно–основная пара  $HR^+$ ,  $R^{\pm}$  характеризуется не типом заряда  $+ / 0$ , а типом заряда  $+ / \pm$ . Если рассматривать цвиттер–ион, как это обычно принято [10], как два отдельных заряда, то  $n_z = 2$ .

В апротонных (не содержащих гидроксильной группы) растворителях таутомерное равновесие ( $R^{\pm} \rightleftharpoons R^o$ ) практически полностью смещено вправо, и поэтому в смесях с большой долей ацетона, диметилформамида и диметилсульфоксида значение  $pK_{a0}$  родамина Б отвечает уже типу заряда  $+ / 0$  ( $HR^+ \rightleftharpoons H^+ + R^o$ ).

Более подробно в настоящей работе исследовано равновесие (2).

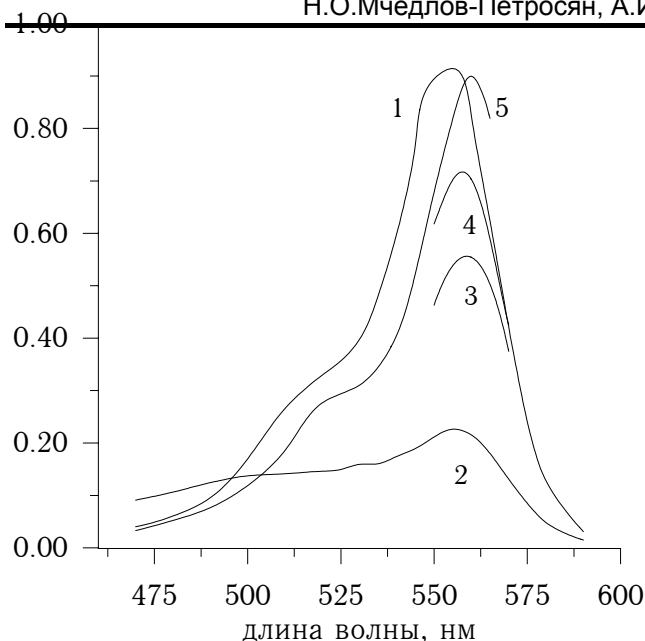


Рис.2. Спектры поглощения водного раствора родамина Б: 1 – вода; 2-5 – 0.65 моль/л  $\text{HClO}_4$ ; 2 – без добавок органических растворителей, 3 – 5 об.% 1,4-диоксана, 4 – 5 об.% метанола, 5 – 29 об.% 1,4-диоксана

В литературе имеется довольно мало сведений о значениях  $\Delta pK_a$  для кислот с типом заряда  $2+ / +$ . Между тем, этот тип заряда соответствует диссоциации протонированного катиона родамина Б, других родаминов, пиронинов и целого ряда катионных красителей. Значение  $n_z$  в этом случае составляет  $-2$ , и можно ожидать заметного снижения соответствующих значений  $pK_a$  при переходе от воды к водно-органическим растворителям. Имеющиеся немногочисленные данные [15] подтверждают это предположение.

Нами обнаружено, что во всех водно-минеральнокислых системах ( $\text{H}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}-\text{HClO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}-\text{HCl}$ ) добавки разнообразных органических растворителей (спирты, диоксан, ацетон, уксусная кислота) оказывают депротонирующее воздействие на дикатион родамина Б

$\text{H}_2\text{R}^{2+}$ , вызывая сдвиг равновесия (2) вправо. Некоторые типичные данные представлены на рис.2 и в таблице 1.

Резкое снижение значения индикаторного отношения мы считаем следствием типа заряда ( $2+ / +$ ). Другие объяснения представляются менее вероятными. Так, уменьшение степени диссоциации минеральных кислот при первых добавках органических растворителей незначительно, а изменение (уменьшение) концентрационных коэффициентов активности участников реакции (2) и повышение устойчивости ионных пар должны скорее стабилизировать дважды протонированный краситель. Во всяком случае, в водном растворе при ионной силе 1 моль/л ( $\text{NaCl} + \text{HCl}$ ) значение  $pK_{a(-1)}$  на 0.6 единиц выше термодинамического значения [9].

**Таблица 1.** Значения  $\log \frac{[\text{H}_2\text{R}^{2+}]}{[\text{HR}^+]}$  –  $\log \frac{[\text{H}_2\text{R}^{2+}]_w}{[\text{HR}^+]_w}$  для родамина Б\* в различных растворителях и при различных концентрациях хлорной кислоты

$\text{HClO}_4$ , моль/л:	0.1606	0.327	0.648	0.654
Растворитель				
1,4-диоксан, 2 масс. %	-0.19			
1,4-диоксан, 10 масс. %	-1.1		-0.74	
1,4-диоксан, 30 масс. %			-1.99	
метанол, 24 масс. %			-1.04	
уксусная кислота, 5.26 моль/л**		-0.89		-0.86
уксусная кислота, 8.76 моль/л		-1.16		-0.94
уксусная кислота, 10.51 моль/л		-1.07		-0.99
уксусная кислота, 13.14 моль/л		-0.78		
уксусная кислота, 14.0 моль/л		-0.58		

\* Найдены из спектров в области  $\lambda_{\text{max}}$

\*\* При этом содержании  $\text{CH}_3\text{COOH}$  форма  $\text{H}_2\text{R}^{2+}$  обнаруживается даже при концентрациях  $\text{HClO}_4$  0.98 и 1.6 моль/л

При высоких концентрациях  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , по мере приближения к чистой уксусной кислоте, выход двухзарядных катионов в присутствии 0.33 моль/л  $\text{HClO}_4$  начинает несколько возрастать. Однако в этих условиях низкое значение  $\epsilon$  затрудняет трактовку результатов. В частности, вполне вероятно усиление ионной ассоциации, могущее дополнительно стабилизировать протонированную форму за счет связывания ее в частицы типа  $\text{H}_2\text{R}^{2+} \text{ClO}_4^-$  или/и  $\text{H}_2\text{R}^{2+} (\text{ClO}_4^-)_2$ . Вообще, в средах с низкими значениями  $\epsilon$  при помощи спектрофотометрического метода определяются суммарные концентрации свободных ионов и соответствующих ионных ассоциатов, например,  $\Sigma[\text{H}_2\text{R}^{2+}] = [\text{H}_2\text{R}^{2+}] + [\text{H}_2\text{R}^{2+} \text{A}^-] + [\text{H}_2\text{R}^{2+} (\text{A}^-)_2]$ . Отчасти это относится и к данным таблицы 1.

В абсолютном метаноле значение  $pK_{a(-1)}$  также достаточно низкое: появление двухзарядных катионов  $\text{H}_2\text{R}^{2+}$  становится заметным лишь при концентрации  $\text{HCl}$  свыше 1.7 моль/л [3].

Мы наблюдали также депротонирование катиона  $\text{H}_2\text{R}^{2+}$  незамещенного родамина (родамина 110) при добавлении этанола к сернокислым растворам, депротонирование катионов  $\text{HR}^{2+}$  родаминов 19 и 3Б при введении этанола либо уксусной кислоты в водных растворах  $\text{HCl}$  и  $\text{HClO}_4$ . Аналогично действуют добавки органических растворителей на кислотнo-основное равновесие пиронинов и метиленового синего. Таким образом, выявленный нами эффект депротонирования дикатионов носит универсальный характер.

В рассмотренных примерах уксусная кислота выступает в роли органического растворителя, но не реагента, протонирующего атомы азота; спектр родамина Б в ледяной уксусной кислоте свидетельствует о преобладании формы  $\text{HR}^+$ , существующей, вероятно, в виде ионных пар  $\text{HR}^+ \text{Cl}^-$  или  $\text{HR}^+ \text{CH}_3\text{COO}^-$ . Однако добавки трифторуксусной кислоты к водному раствору красителя сами по себе обеспечивают протонирование:

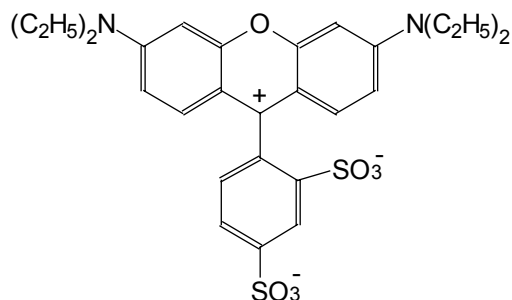
$\text{CF}_3\text{COOH}$ , моль/л:	0.26	1.04	5.2
$\frac{\Sigma[\text{H}_2\text{R}^{2+}]}{\Sigma[\text{HR}^+]} =$	0.555	2.18	11.8

В 10-молярной  $\text{CF}_3\text{COOH}$  и тем более в чистой трифторуксусной кислоте родамин Б полностью превращен в форму  $\text{H}_2\text{R}^{2+}$ , существующую, очевидно, в виде ионных ассоциатов с  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ .

Промежуточное положение между уксусной и трифторуксусной кислотами занимает муравьиная кислота, влияние которой на спектр водного раствора родамина Б было нами подробно исследовано. В частности, в  $\approx 50\%$ -ной (по объему) водной кислоте начинает проявляться протонирование катиона  $\text{HR}^+$ , а в  $\approx 80\%$ -ной  $\text{HCOOH}$  форма  $\text{H}_2\text{R}^{2+}$  явно преобладает.

Корректные количественные оценки  $\Delta pK_{a(-1)}$  в рассмотренных нами системах затруднительны, так как значения  $pK_{a(-1)}$  смещаются в область функций кислотности ( $\text{H}_x$ ). При этом следует иметь в виду, что значения функции  $\text{H}_0$  и других функций кислотности для водно-органических смесей стандартизованы к бесконечному разбавлению в воде [10,16], что делает их неприменимыми для наших целей. Однако многочисленные данные, аналогичные представленным здесь в качестве примеров, вполне достаточны для констатации факта резкого депротонирующего действия органических добавок по отношению к катиону  $\text{H}_2\text{R}^{2+}$ .

Интересно отметить, что при добавлении как уксусной кислоты к водным растворам  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , так и пропанола-2 к водным растворам  $\text{HClO}_4$  эффект депротонирования группы  $-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{H}^+$  наблюдался и для родамина 200 С, содержащего две сульфогруппы:



Спектры этого соединения (взятого в виде натриевой соли  $\text{NaR}$ ) при добавлении указанных минеральных кислот изменяются примерно так, как и в случае родамина Б [17], однако здесь пока трудно однозначно установить тип заряда, поскольку в кислой среде не исключено также протонирование групп  $-\text{SO}_3^-$ , не сказывающееся заметным образом на поглощении в видимой части спектра.

### *Возможные практические приложения*

Найденный эффект может быть использован для простого и быстрого спектрофотометрического определения содержания макроколичеств органических растворителей в различных объектах. Наиболее привлекательны в этом отношении лекарственные средства, в частности, различные настойки и спиртовые растворы, содержащие обычно 30-90% этанола.

Для контроля содержания этанола в лекарственных средствах применяются различные способы: прямое определение методом дистилляции [18] или газохроматографически [19], либо косвенный контроль по содержанию воды, проводимый методом Фишера [20]. Все они, наряду с преимуществами, имеют и свои недостатки – необходимость использовать большие объемы пробы (25–75 мл в методе дистилляции), сложное аппаратное оформление и длительность (метод газовой хроматографии), использование вредных растворителей (метод Фишера) [20], и т.д. Поэтому простой и быстрый спектрофотометрический метод может оказаться в некоторых случаях удобным для контроля содержания этанола в условиях небольших лабораторий.

Наиболее близким по своей сути к предлагаемому методу является спектрофотометрическое определение содержания воды в спиртовых лекарственных средствах, основанное на изменении диссоциации пикриновой кислоты в спиртовых средах в зависимости от концентрации воды [2,20,21]. Данный метод позволяет получать надежные результаты при анализе самых различных лекарственных средств [2,20,21], что косвенно позволяет контролировать в них и содержание этанола.

Обнаруженный нами эффект позволяет непосредственно количественно определять содержание этанола в спиртовых лекарственных средствах при помощи спектрофотометрического метода.

Для выяснения оптимальных условий количественного определения этанола с применением родамина Б мы задавались концентрацией красителя  $1.05 \cdot 10^{-5}$  моль/л и варьировали концентрацию серной кислоты (от 0.5 до 2.5 моль/л), содержание спирта (от 15% до 80%), а также рабочую длину волны ( $400 \text{ нм} < \lambda < 580 \text{ нм}$ ). Для аналитических целей оптимальными оказались следующие условия: концентрация  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 моль/л, аналитическая длина волны  $\lambda = 560 \text{ нм}$ . В этих условиях линейная зависимость оптической плотности от содержания этанола (с коэффициентом корреляции 0.993) наблюдалась в интерва-

ле 0–30%  $C_2H_5OH$ . Стандартное время анализа: 10–15 минут при расходе препарата 10–15 мл. В случае необходимости пробы можно разбавлять.

Сильнокислая среда позволяет в значительной степени нивелировать индивидуальные особенности разных лекарственных препаратов и получать устойчивые результаты [2,20,21]. Поэтому мы применили данный метод для количественного определения содержания этанола в “Спирте муравьином”. Данный лекарственный препарат (ФС 42-643-92) представляет собой раствор муравьиной кислоты (14 г) в 70%-ном (по массе) этаноле (986 г). Наличие муравьиной кислоты затрудняет использование методов дистилляции (из-за летучести  $HCOOH$ ) и газовой хроматографии (ввиду возможности образования сложных эфиров), однако не мешает проведению анализа по предложенной методике. Стандартные растворы, использованные для построения градуировочных графиков, содержали 2.4 масс.% муравьиной кислоты (впрочем, присутствие последней практически не сказывается на результатах).

Удобство использования именно этого типа заряда заключается в том, что определение можно проводить в кислых средах. Кроме того, при добавлении первых порций органического растворителя значения  $pK_a$  кислот, в том числе и индикаторных, с типами заряда 0/– и –/2– изменяются не столь резко. Так, значение  $pK_a$  индикатора бромфенолового синего ( $HR^- \rightleftharpoons R^{2-} + H^+$ ) при переходе от воды к 33%-ному этанолу возрастает всего на 0.5 единиц [3].

### Литература

1. Дж. Митчелл, Д. Смит. Акватметрия. Пер. с англ. М.: Химия. 1980, 600 с.
2. А.И.Гриздуб, М.Г. Левин, В.П. Георгиевский. Журн. аналит. химии. 1985. Т.40. №10. С.1815-1817.
3. Н.О.Мchedlov-Петросян. Дисс. ... докт. хим. наук. Харьков. 1992.
4. Н.О.Мchedlov-Петросян. Журн. физич. химии. 1985. Т.59. № 12. С. 3000-3004.
5. Н.О.Мchedlov-Петросян, О.А. Калембет, Э. Ариас Кордова. Вестник ХГУ. 1989. № 340. С. 3-18.
6. Н.О.Мchedlov-Петросян. Вестник ХГУ. 1991. № 359. С. 18-32.
7. Н.О.Мchedlov-Петросян, Л.А. Федоров, С.А. Соколовский, Ю.Н. Суров, Р. Салинас Майорга. Изв. АН. Сер. хим. 1992. № 3. С.512-521.
8. Н.О.Мchedlov-Петросян. Журн. физич. химии. 1979. Т.53. № 10. С. 2641-2642.
9. Н.О.Мchedlov-Петросян. Вестник ХГУ. 1982. № 236. С. 26-33.
10. Р.Бейтс. Определение pH. Л.: Химия, 1972. 400 с.
11. Н.А.Измайлов. Избранные труды. Киев: Наукова думка, 1967. 459 с.
12. А.В.Агафонов, М.М. Николаева, Г.А. Крестов. Коорд химия. 1992. Т.18. №9. С.911-914.
13. Н.О.Мchedlov-Петросян, Л.В. Васецкая. Журн. общей химии. 1989. Т.59. № 3. С.691-703.
14. M.Faraggi, P. Peretz, I. Rosenthal, D. Weinraub. Chem.Phys.Lett. 1984. V.103. №4. P.310-314.
15. G. Bates. Electroanal. Chem. and Interfacial Electrochem. 1971. V. 29. № 1. P.1-19.
16. R.A.Cox, K. Yates. Can. J. Chem. 1983. V.61. №10. P.2225-2243.
17. N.O.Mchedlov-Petrossyan, S.A. Shapovalov, S.I. Egorova, V.N. Kleshchevnikova, E. Arias Cordova. Dyes and Pigments. 1995. V.28. №1. P.7-18.
18. ГФ XI. Вып.1. С.26,177.
19. Britain Pharmacopeia 98. A 159, Ap VIII F.
20. О.И.Гриздуб, М.Г. Левин, В.П. Георгиевский. Фармац. журн. 1988. №6. С.41-43.
21. О.И.Гриздуб, М.Г. Левин, В.П. Георгиевский. Контроль вмісту води в деяких спиртових лікарських засобах. Фармац. журн. 1985. №5. С.52-55.

Поступила в редакцию 8 февраля 1999 г.

Kharkov University Bulletin. 1999. №437. Chemical Series. Issue 3(26). N.O.Mchedlov-Petrosyan, A.I.Grizodoub, V.I.Kukhtik. The influence of the solvent on rhodamine B protonation. An indicator method for determination of ethanol macroamounts in water–ethanol mixtures.

The character of the influence of organic solvents addition on the protonation of rhodamine B neutral form confirms its zwitter–ionic structure in water. The  $pK_{a0}$  value, describing the equilibria  $HR^+ \rightleftharpoons R+H^+$ , varies in accord with the charge type  $+/\pm$ . Only in media with considerable content of aprotic solvents the predominance of the colourless tautomer of neutral form leads to the charge type  $+/0$ .

The protonation of the dye cation, occurring in aqueous solutions at  $pH < 1$ , weakens sharply on adding organic solvents of various nature. Such an impact on the  $pK_{a(-1)}$  is in accord with the charge type  $2+/+$  ( $H_2R^{2+} \rightleftharpoons HR^+ + H^+$ ). The effect revealed allows to determine macroamounts of ethanol in its mixtures with water, e.g. in tinctures. In  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$   $H_2SO_4$  solution a linear dependence of absorbance ( $\lambda$  560 nm) vs. ethanol content is observed within the range of 0–30%  $C_2H_5OH$ .